

10 DEC 2004

516,315

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2003年12月18日 (18.12.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/104246 A1(51) 国際特許分類: C07F 9/6574, 9/655,
A61K 31/662, A61P 35/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/07335

(22) 国際出願日: 2003年6月10日 (10.06.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-169743 2002年6月11日 (11.06.2002) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社
ジェンコム (GENCOM CORPORATION) [JP/JP]; 〒
194-8511 東京都町田市南大谷11号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 室伏 きみ
子 (MUROFUSHI, Kimiko) [JP/JP]; 〒336-0026 埼玉
県さいたま市辻4-1 2-1 7 Saitama (JP). 向井睦子 (MUKAI, Mutsuko) [JP/JP]; 〒657-0024 兵庫県
神戸市 灘区楠ヶ丘町4-2-8-2 02 Hyogo (JP).
小林 進 (KOBAYASHI, Susumu) [JP/JP]; 〒152-0032
東京都目黒区平町2-1-7 Tokyo (JP). 室伏 横
(MUROFUSHI, Hiromu) [JP/JP]; 〒336-0026 埼玉県
さいたま市辻4-1 2-1 7 Saitama (JP).(74) 代理人: 特許業務法人特許事務所サイクス (SIKS &
CO.); 〒104-0031 東京都中央区京橋一丁目8番7号
京橋日殖ビル8階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

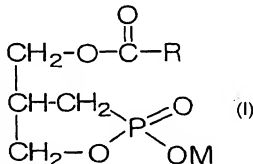
添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイドランスノート」を参照。

(54) Title: CARBACYCLIC PHOSPHATIDIC ACID DERIVATIVE

(54) 発明の名称: カルバ環状ホスファチジン酸誘導体



(57) Abstract: A carbacyclic phosphatidic acid derivative having a novel structure which includes a glycerol skeleton in which the oxygen in the sn2 position has been replaced with CH₂. The infiltration inhibitory activity of the derivative against cancer cells is investigated. The derivative is a compound represented by the following formula (I): (I) wherein R is linear or branched C₁₋₃₀ alkyl, linear or branched C₂₋₃₀ alkenyl, or linear or branched C₂₋₃₀ alkynyl, provided that these groups may have a cycloalkane ring or aromatic ring; and M is hydrogen or a counter cation.

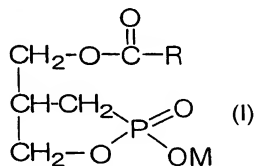
[続葉有]

WO 03/104246 A1



(57) 要約:

本発明の目的は、グリセロール骨格の sn-2 位の O を CH_2 に置換した新規な構造を有するカルバ環状ホスファチジン酸誘導体を合成し、当該誘導体による癌細胞の浸潤抑制作用を検討することである。本発明によれば、下記式 (I) :



(式中、Rは、炭素数1～30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基、炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基、又は炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基であり、これらの基はシクロアルカン環又は芳香環を含んでいてもよい。Mは、水素原子又は対カチオンである。) 示される化合物が提供される。

明細書

カルバ環状ホスファチジン酸誘導体

技術分野

本発明は、カルバ環状ホスファチジン酸誘導体、及びそれを用いた医薬に関する。

背景技術

リゾホスファチジン酸 (LPA, lysophosphatidic acid) は、生体膜を構成するリン脂質の中で最も単純な構造を持っており、ホスファチジン酸 (PA) からグリセロールの sn-1 位あるいは 2 位の脂肪酸のどちらか一方が脱アシル化されたものである (図 1)。通常の細胞において、全リン脂質中にしめる LPA の割合は 0.5% 以下ときわめて少なく、1980 年代までは単に、リン脂質生合成の中間体や分解産物としてしか認識されていなかった。しかし最近、LPA の様々な生理活性が示され (Moolenaar, W.H. : Exp. Cell Res. 253, 230-238 (1999))、さらに、細胞膜上の複数の受容体の存在も明らかになって (Guo, Z., 他, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 14367-14372 (1996); Hecht, J.H., 他, J. Cell Biol. 135, 1071-1083 (1996); An, S., 他, J. Biol. Chem. 273, 7906-7910 (1998); Bandoh, K., 他, J. Biol. Chem. 274, 27776-27785 (1999); 及び Im, D-S., 他, Mol. Pharmacol. 57, 753-759 (2000))、機能リン脂質として注目されるようになった。

LPA は、細胞種によって様々な作用を引き起こす事が知られる。細胞の増殖促進 (van Corven, E. J., 他, Cell 59, 45-54 (1989)) や細胞死の抑制 (Umansky, S. R., 他, Cell Death Diff. 4, 608-616 (1997)) に加え、低分子量 G タンパク質の一つである Rho を介したシグナル伝達系の活性化によって、細胞骨格の変化を導き、繊維芽細胞におけるストレスファイバーの形成 (Gohla, A., 他, J. Biol. Chem. 273, 4653-4659 (1998)) や、神経細胞における神経突起の退縮 (Tigyi, G., 他, J. Biol. Chem. 267, 21360-21367 (1992); Jalink, K., 他, Cell Growth & Differ.

4, 247-255 (1993); Jalink, K., 他, J. Cell Biol. 126, 801-810 (1994); 及び Tigyi, G., 他, J. Neurochem. 66, 537-548 (1996)), 癌細胞の浸潤 (Imamura, F., 他, Biochem. Biophys. Res. Commun. 193, 497-503 (1993); O' Connor, K. L., 他, J. Cell Biol. 143, 1749-1760 (1998); Stam, J. C., 他, EMBO J. 17, 4066-4074 (1998)) などを誘導する。

一方、1992年には、真性粘菌 *Physarum polycephalum* の単相体ミクソアメーバから、真核細胞のDNA複製酵素であるDNAポリメラーゼ α の活性を抑え、動物培養細胞の増殖を抑制する脂溶性物質が見いだされ、単離・精製された (Murakami-Murofushi, K., 他, J. Biol. Chem. 267, 21512-21517 (1992))。この物質はグリセロール骨格の sn-1 位にシクロプロパンを含むヘキサデカン酸が結合し、2位と3位にリン酸が環状エステル結合した物質であることがわかり (図1)、*Physarum* 由来の LPA 様物質であることから、PHYLPA と命名された。

PHYLPA が sn-1 位に特徴的な脂肪酸を有することから、一般的な脂肪酸に置換した誘導体を化学合成し、その活性を検討した。その結果、程度に強弱こそあったが、いずれも細胞増殖を抑制することが示され、PHYLPA の増殖抑制作用が、2位と3位の環状リン酸基によることが明らかになった。現在では、このような環状リン酸基を持つ LPA 類似体を総称して、環状ホスファチジン酸 (cPA, cyclic phosphatidic acid) と呼んでいる (図1)。この cPA は最近、ヒト血清中にアルブミンに結合した形で検出され (Kobayashi, T., 他, Life Sciences 65, 2185-2191 (1999))、広く生物界に存在することが明らかになった。また、このとき分離された脂質画分中の cPA は、パルミチン酸を脂肪酸として持つ Pal-cPA が主要成分であった。血清の他、ラットやブタの脳でも cPA の存在が確認され、Tigyi らはまた、ウサギの角膜損傷モデルにおいて、房水や涙腺液中に、cPA を含む一群の LPA 類縁体を検出している (Lilom, K., 他, Am. J. Physiol. 274, C1065-C1074 (1998))。

cPA は、LPA と同様な、または相反する様々な生理活性を示すことが明らかになっている。LPA が培養細胞の増殖を促進するのに対し、cPA は抑制作用を示す (Murakami-Murofushi, K., 他, Cell Struct. Funct. 18, 363-370 (1993))。この作

用は可逆的であり、培地から cPA を除くと、細胞は再び増殖を始める。増殖抑制作用の機構として、ふたつの可能性が示唆されている。

マウス繊維芽細胞 (NIH3T3) において、cPA が細胞内 cAMP 濃度を数分以内に上昇させることが見いだされている。細胞内の Ca^{2+} 濃度の上昇を妨げることによってこの現象は見られなくなり (Murakami-Murofushi, K., 他, Cell Struct. Funct. 18, 363-370 (1993)), cPA は細胞膜上の受容体を介して Ca^{2+} 依存的なアデニル酸シクラーゼを活性化している可能性が考えられる。細胞内 cAMP 濃度の上昇が MAP キナーゼの活性化を抑制することが示されており (Hordijk, P. L., 他, J. Biol. Chem. 269, 3534-3538 (1994); 及び Howe, L. R., 他, J. Biol. Chem. 268, 20717-20720 (1993)), このことが、増殖阻害につながる可能性が示唆された。一方、cPA はその構造上、容易に細胞内に取り込まれると考えられる。この点に関し、sn-1 位を蛍光標識した cPA を合成し、細胞に添加した後にその挙動を観察することで、cPA が迅速に細胞内に移行し、細胞質中、核の周辺部に局在することが判明している。また、cPA が *in vitro* で、細胞周期を制御する cdc25 ホスファターゼの活性を阻害することが見いだされており (小林哲幸・室伏きみ子: 蛋白質 核酸 酵素 44, 1118-1125 (1999)), このことから、cPA が、細胞膜上の受容体を介さずに、細胞質内で cdk2 キナーゼ複合体の活性化を直接抑制することで、細胞の増殖を阻害している可能性も考えられる。

また、血清を制限した培地で培養した繊維芽細胞では、LPA、cPA 共に、細胞内のアクチン分子によるストレスファイバーの形成を誘導する (小林哲幸・室伏きみ子: 蛋白質 核酸 酵素 44, 1118-1125 (1999))。この場合は、cPA も LPA と同様に、細胞膜受容体への結合を介して Rho を活性化することで、その作用を引き起こすと考えられる。

さらに、癌細胞の浸潤については、LPA の促進作用に対し、cPA は強い抑制活性を示す (Mukai, M., 他, Int. J. Cancer 81, 918-922 (1999))。

癌の転移は、腫瘍の悪性化を示す最も顕著な現象であり、複雑な過程を経て成立する。中でも浸潤は特徴的なステップであり、生体内で原発巣から遊離した癌

細胞は、間質、血管内に浸潤して血流によって運ばれ、血管外、さらに遠隔臓器へと浸潤し、そこで増殖して転移巣を作る。In vitro でこの現象を解析するために、明渡らは、ラット腹水肝癌細胞 (AH-130) をラット腹腔に移植した際における腹膜浸潤をモデル化し、宿主正常細胞層を越えた癌細胞の移動を定量的に評価できる実験系を開発した (Akedo, H., 他, Cancer Res. 46, 2416-2422 (1986))。通常、浸潤の研究には細胞外基質をコーティングした膜を通り抜けた癌細胞を観察する実験系が用いられるが、その方法に対してこの系は、in vivo をよく反映すると考えられている。この実験系に用いられるいくつかの癌細胞には、その浸潤に血清を必要とするものとししないものがある。AH-130 細胞の高浸潤性クローン (MM1) は、その浸潤に血清を必要とし、血清中の浸潤促進物質の検索の結果、少なくともそのうちの 하나가 LPA であることが明らかになった (Imamura, F., 他, Biochem. Biophys. Res. Commun. 193, 497-503 (1993))。このことから、LPA 構造類似体である cPA の浸潤に対する影響を調べたところ、LPA とは全く逆に、浸潤を抑制することが見いだされた。いくつかの、sn-1 位に異なる脂肪酸が結合した誘導体を合成し、その浸潤抑制活性を調べたところ、Pal-cPA が最も強い浸潤抑制を示した。また、同じアッセイ系において、その浸潤に血清や LPA を必要としないヒト繊維肉腫細胞 (HT-1080) の浸潤も、Pal-cPA によって顕著に抑制された (Mukai, M., 他, Int. J. Cancer 81, 918-922 (1999))。

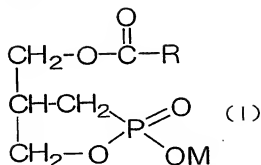
MM1 細胞においても、Pal-cPA の添加によって細胞内 cAMP 濃度は数分のうちに上昇し、LPA 共存下においてもこの効果は失われなかった (Mukai, M., 他, Int. J. Cancer 81, 918-922 (1999))。そこで細胞内 cAMP 濃度を上昇させる試薬を添加したところ、LPA 誘導性の浸潤は抑制された。さらに、これらの試薬や Pal-cPA の添加によって、LPA による Rho の活性が阻害されることが示された (Mukai, M., 他, FEBS Letters 484, 69-73 (2000))。これらのことから、この癌細胞 (MM1) においても、cPA は細胞内 cAMP 濃度を上昇させることによって、cAMP-dependent Protein Kinase A (A キナーゼ) の活性化を介して Rho の活性を阻害し、浸潤を抑制する可能性が示唆された。

発明の開示

本発明者らは以前に、グリセロール骨格の sn-3 位の O を CH_2 に置換した環状ホスファチジン酸誘導体を合成し、当該誘導体が癌細胞の浸潤を抑制できることを実証している（特願 2001-150685 号）。本発明では、グリセロール骨格の sn-2 位の O を CH_2 に置換した新規な構造を有するカルバ環状ホスファチジン酸誘導体を合成し、当該誘導体による癌細胞の浸潤抑制作用を検討することにより、新規な医薬を提供することを解決すべき課題とした。

本発明者らは、上記した新規な構造を有するカルバ環状ホスファチジン酸誘導体を合成するために鋭意検討した結果、Dubois らの方法（Dubois J. et al., Tetrahedron, 47, 1001 (1991)）に従って合成したヨウ化物化合物を原料に用いて Arbuzov 反応を行って（2, 2-ジメチルー [1, 3] ジオキサネ-5-イルメチル）-ホスホン酸ジメチルエステルを合成し、次に、この化合物とメタノールおよび p-トルエンスルホン酸水和物とを反応させることにより、（2-メトキシ-2-オキソ-2,1,5-[1, 2] オキサホスホラン-4-イル）メタノールを合成し、さらにこの化合物に所望の脂肪酸を反応させてエステル化することによりグリセロール骨格の sn-2 位の O を CH_2 に置換した構造を有する環状ホスファチジン酸誘導体を合成することに成功した。上記した合成経路は従来報告のない新規な合成経路である。そして、得られたカルバ環状ホスファチジン酸誘導体を *in vitro* 浸潤アッセイ系において癌細胞の浸潤抑制活性を評価した結果、本発明のカルバ環状ホスファチジン酸誘導体は癌細胞浸潤抑制活性を示すことを実証した。本発明はこれらの知見に基づいて完成したものである。

即ち、本発明によれば、下記式（I）：

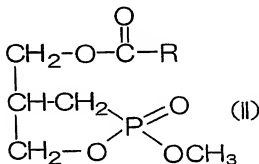


(式中、Rは、炭素数1～30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基、炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基、又は炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基であり、これらの基はシクロアルカン環又は芳香環を含んでいてもよい。Mは、水素原子又は対カチオンである。)

で示される化合物が提供される。

好ましくは、下記式(I)において、Rは $-\text{C}_{16}\text{H}_{33}$ 、 $-(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CHC}_6\text{H}_{13}$ 、又は $-(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CHC}_8\text{H}_{17}$ である。

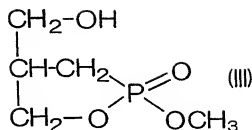
本発明の別の側面によれば、下記式(II)：



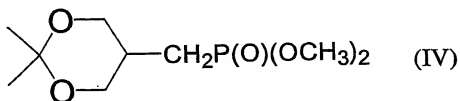
(式中、Rは、炭素数1～30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基、炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基、又は炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基であり、これらの基はシクロアルカン環又は芳香環を含んでいてもよい。)

で示される化合物が提供される。

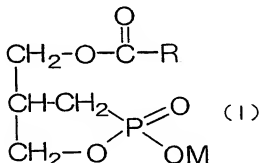
本発明のさらに別の側面によれば、下記式(III)で示される化合物が提供される。



本発明のさらに別の側面によれば、下記式（I V）で示される化合物が提供される。



本発明のさらに別の側面によれば、下記式（I）：



（式中、Rは、炭素数1～30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基、炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基、又は炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基であり、これらの基はシクロアルカン環又は芳香環を含んでいてもよい。Mは、水素原子又は対カチオンである。）

で示される化合物を有効成分として含む医薬が提供される。

本発明の医薬は、好ましくは、抗癌剤として使用することができ、さらに好ましくは、癌細胞の浸潤を抑制することにより癌の転移を抑制するために使用することができる。

本発明のさらに別の側面によれば、治療的有効量の上記式（I）で示される化合物をヒトを含む哺乳動物に投与することを含む、癌又は癌の転移を抑制する方法が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、上記式（I）で示される化合物の、医薬（例えば、抗癌剤など）の製造における使用が提供される。

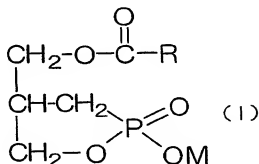
図面の簡単な説明

図 1 は、LPA によって誘導される浸潤に対する cPA 合成誘導体の影響を In vitro 浸潤アッセイで調べた結果を示す。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

本発明の化合物は、下記式（I）：



（式中、Rは、炭素数1～30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基、炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基、又は炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基であり、これらの基はシクロアルカン環又は芳香環を含んでいてもよい。Mは、水素原子又は対カチオンである。）

で示されるカルバ環状ホスファチジン酸誘導体である。

式（I）において、置換基Rが示す炭素数1～30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基の具体例としては、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基、ヘプチル基、オクチル基、ノニル基、デシル基、ウン

デシル基、ドデシル基、トリデシル基、テトラデシル基、ペンタデシル基、ヘキサデシル基、ヘプタデシル基、オクタデシル基、ノナデシル基、エイコシル基などが挙げられる。

置換基Rが示す炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基の具体例としては、例えば、アリル基、ブテニル基、オクテニル基、デセニル基、ドデカジエニル基、ヘキサデカトリエニル基などが挙げられ、より具体的には、8-デセニル基、8-ウンデセニル基、8-ドデセニル基、8-トリデセニル基、8-テトラデセニル基、8-ペンタデセニル基、8-ヘキサデセニル基、8-ヘプタデセニル基、8-オクタデセニル基、8-イコセニル基、8-ドコセニル基、ヘプタデカ-8, 11-ジエニル基、ヘプタデカ-8, 11, 14-トリエニル基、ノナデカ-4, 7, 10, 13-テトラエニル基、ノナデカ-4, 7, 10, 13, 16-ペンタエニル基、ヘニコサ-3, 6, 9, 12, 15, 18-ヘキサエニル基などが挙げられる。

置換基Rが示す炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基の具体例としては、例えば、8-デシニル基、8-ウンデシニル基、8-ドデシニル基、8-トリデシニル基、8-テトラデシニル基、8-ペンタデシニル基、8-ヘキサデシニル基、8-ヘプタデシニル基、8-オクタデシニル基、8-イコシニル基、8-ドコシニル基、ヘプタデカ-8, 11-ジイニル基などが挙げられる。

上記のアルキル基、アルケニル基又はアルキニル基に含有されうるシクロアルカン環の具体例としては、例えば、シクロプロパン環、シクロブタン環、シクロペンタン環、シクロヘキサン環、シクロオクタン環などが挙げられる。シクロアルカン環は、1個以上のヘテロ原子を含んでいてもよく、そのような例としては、例えば、オキシラン環、オキセタン環、テトラヒドロフラン環、N-メチルプロリジン環などが挙げられる。

上記のアルキル基、アルケニル基又はアルキニル基に含有されうる芳香環の具体例としては、例えば、ベンゼン環、ナフタレン環、ビリジン環、フラン環、チオフェン環などが挙げられる。

従って、置換基Rがシクロアルカン環によって置換されたアルキル基である場合の具体例としては、例えば、シクロプロピルメチル基、シクロヘキシルエチル基、8, 9-メタノペンタデシル基などが挙げられる。

置換基Rが芳香環によって置換されたアルキル基である場合の具体例としては、ベンジル基、フェネチル基、p-ペンチルフェニルオクチル基などが挙げられる。

式(I)で示される環状ホスファチジン酸誘導体中のMは、水素原子又は対カチオンである。Mが対カチオンである場合の例としては、例えば、アルカリ金属原子、アルカリ土類金属原子、置換若しくは無置換アンモニウム基が挙げられる。アルカリ金属原子としては、例えば、リチウム、ナトリウム、カリウムなどが挙げられ、アルカリ土類金属原子としては、例えば、マグネシウム、カルシウムなどが挙げられる。置換アンモニウム基としては、例えば、ブチルアンモニウム基、トリエチルアンモニウム基、テトラメチルアンモニウム基などが挙げられる。

本発明はさらに、上記式(II) (式中、Rは、炭素数1~30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基、炭素数2~30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基、又は炭素数2~30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基であり、これらの基はシクロアルカン環又は芳香環を含んでもよい。)で示される化合物、下記式(III)で示される化合物、並びに下記式(IV)で示される化合物に関する。

式(III)、式(III)又は式(IV)で示される化合物は、式(I)で示される本発明の化合物の合成中間体として有用である。

式(I)の化合物はその置換基の種類に応じて、位置異性体、幾何異性体、互変異性体、又は光学異性体のような異性体が存在する場合があるが、全ての可能な異性体、並びに2種類以上の該異性体を任意の比率で含む混合物も本発明の範囲内のものである。

また、式(I)の化合物は、水あるいは各種溶媒との付加物(水和物又は溶媒和物)の形で存在することもあるが、これらの付加物も本発明の範囲内のものである。さらに、式(I)の化合物及びその塩の任意の結晶形も本発明の範囲内のものである。

式 (I) で示される本発明の化合物は、例えば、本明細書の実施例に記載した通り以下の合成経路によって合成することができる。但し、この合成経路は本発明の化合物の合成の一例を示すものにすぎず、他の合成経路によって製造された化合物も本発明の範囲内のものである。

(1) 第一工程：

出発化合物としては Dubois らの方法 (Dubois J. et al., Tetrahedron, 47, 1001 (1991).) に従って合成したヨウ化物化合物 (以下の実施例に記載のヨウ化物 1) を使用する。ヨウ化物 1 に亜リン酸トリメチルを加え、適当な時間 (例えば、数時間から数日程度) 加熱還流する。反応の途中で亜リン酸トリメチルを加えて、さらに還流して反応を行なうことができる。反応後の反応液を放冷後、減圧蒸留を行い、残存する亜リン酸トリメチルを除去する。残渣を常法 (例えば、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、クロロホルム：メタノール=15:1 で溶出など) で精製することにより (2, 2-ジメチルー [1, 3] ジオキサン-5-イルメチル)-ホスホン酸ジメチルエステル (即ち、式 (I V) の化合物) を得ることができる。

(2) 第二工程

上記第一工程で得た (2, 2-ジメチルー [1, 3] ジオキサン-5-イルメチル)-ホスホン酸ジメチルエステルをトルエンに溶解し、メタノールおよび p-トルエンスルホン酸水和物を加え、適当な時間 (例えば、30分から10時間程度) 加熱還流する。放冷後、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を常法 (例えば、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、クロロホルム：メタノール=15:1 で溶出など) で精製することにより、(2-メトキシ-2-オキソ-2,1,5-[1, 2] オキサホスホラン-4-イル) メタノール (即ち、式 (I I I) の化合物) を得ることができる。

(3) 第三工程

上記第二工程で得た (2-メトキシ-2-オキソ-2,1,5-[1, 2] オキサホスホラン-4-イル) メタノールをジクロロメタンに溶解し、DMAP、脂肪酸お

よびWSCを添加し、攪拌して反応させる。ここで用いる脂肪酸としては、例えば、オレイン酸、パルミチン酸、又はパルミトレイン酸など、式(I)の化合物における置換基Rの種類に応じて所望の脂肪酸を使用することができる。反応溶液をメタノールで希釈し、水で洗浄して有機層を酢酸エチルで抽出することができる。有機層を乾燥し、溶媒を除去して得られる粗生成物を常法(例えば、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、ベンゼン:酢酸エチル=1:1など)で精製することにより、環状ホスホン酸エステル(即ち、式(II)の化合物)を得ることができる。

(4) 第四工程

上記第三工程で得た式(II)で示される環状ホスホン酸エステルをジクロロメタンに溶解し、低温(例えば、 -15°C)でTMSBrを加え、適当な時間攪拌する、反応溶液を冷エーテルで抽出し、有機層を乾燥し、溶媒を留去する。得られた粗生成物を、常法(例えば、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、ヘキサン:酢酸エチル=2:1、続いてクロロホルム:メタノール=5:1など)で精製することにより式(I)で示される本発明のカルバ環状ホスファチジン酸誘導体を得ることができる。

本発明はさらに、上記定義した式(I)で示される化合物を有効成分として含む医薬に関する。本発明の医薬は、例えば、抗癌剤として使用することができる。

本発明の医薬の用途の一例としては、癌細胞の浸潤を抑制することにより癌の転移を抑制するために使用することができる。

癌の転移は癌細胞の原発巣からの離脱に始まり、細胞外マトリックスの破壊、血管内への侵入、血管内皮細胞層を越えての浸潤、遠隔臓器での接着、増殖という多段階の過程をとる。これらの過程には種々の因子が関与しており、それらの阻害物質が新しい癌転移抑制剤として注目されている。中でも、浸潤は転移という現象の最も特徴的なステップであり、癌細胞の浸潤を抑制する物質の中から優れた制癌剤が開発される可能性は極めて高いと考えられる。本発明の医薬は、癌細胞の浸潤抑制剤として使用できる新規な癌転移抑制剤を提供するものである。

本発明における癌転移とは、癌細胞がある場所から他の臓器、器官等に移動・増殖すること、即ち、癌細胞が原発巣から離れた部位に移動して癌が形成されることを意味し、血行性及びリンパ行性の両方を含む。

本発明の医薬で処置すべき癌の種類は特には限定されず、良性腫瘍及び悪性腫瘍の全てを包含する。癌の具体例としては、悪性黒色腫、悪性リンパ腫、消化器癌、肺癌、食道癌、胃癌、大腸癌、直腸癌、結腸癌、尿管腫瘍、胆嚢癌、胆管癌、胆道癌、乳癌、肝臓癌、膵臓癌、辜丸腫瘍、上顎癌、舌癌、口唇癌、口腔癌、咽頭癌、喉頭癌、卵巣癌、子宮癌、前立腺癌、甲状腺癌、脳腫瘍、カポジ肉腫、血管腫、白血病、真性多血症、神経芽腫、網膜芽腫、骨髄腫、膀胱腫、肉腫、骨肉腫、筋肉腫、皮膚癌、基底細胞癌、皮膚付属器癌、皮膚転移癌、皮膚黒色腫などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

癌はその種類により、転移しやすい臓器は少しずつ異なり、例えば、乳癌は肺、肝、骨、リンパ節に、胃癌では肝、肺、骨、副腎に、そして大腸癌では肝、肺、副腎などに高率に転移することが知られている。転移癌の例としては、転移性肝癌、転移性空腸癌、転移性骨腫瘍、転移性脳腫瘍、転移性肺腫瘍、皮膚転移癌、転移性肋骨腫瘍、転移性卵巣癌等がある。好ましい態様によれば、本発明の医薬は、このような癌転移を抑制するために使用することができ、特に、術後の癌転移抑制剤としても有用である。また、本発明の医薬は、臨床的には癌再発抑制剤でもあり、患者の生存期間を延長し、生存率を高めることが期待される。

本発明の医薬を抗癌剤として使用する場合、既知の化学療法、外科的治療法、放射線療法、温熱療法や免疫療法などと組み合わせて用いることができる。特に、本発明の医薬は、既知の抗腫瘍剤および／または癌転移抑制物質との併用により、さらに抗癌効果を高めることができる。本発明の抗癌剤を併用することにより、投与すべき既知の抗腫瘍剤および／または癌転移抑制物質の量を減量することができ、これにより、これらの薬物により引き起こされる副作用（白血球減少、血小板減少、出血、貧血、食欲不振、悪心、嘔吐、口内炎、下痢、発疹、脱毛、皮膚の色素沈着、発熱、倦怠感、頭痛、肝機能障害、蛋白尿、浮腫、過敏症等）を

低減することができる場合もある。

本発明の医薬は、1又は2以上の製剤学的に許容される製剤用添加物と有効成分である一般式（I）で示される化合物とを含む医薬組成物の形態で提供することが好ましい。

本発明の医薬は、種々の形態で投与することができ、経口投与でも非経口投与（例えば、静脈内、筋肉内、皮下又は皮内等への注射、直腸内投与、経粘膜投与など）でもよい。経口投与に適する医薬組成物としては、例えば、錠剤、顆粒剤、カプセル剤、散剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤などを挙げることができ、非経口投与に適する医薬組成物としては、例えば、注射剤、点滴剤、坐剤、経皮吸収剤などを挙げることができるが、本発明の医薬の剤形はこれらに限定されることはない。さらに、公知の技術によつて持続性製剤とすることもできる。

本発明の医薬の製造に用いられる製剤用添加物の種類は特に限定されず、当業者が適宜選択可能である。例えば、賦形剤、崩壊剤又は崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、基剤、溶解剤又は溶解補助剤、分散剤、懸濁剤、乳化剤、緩衝剤、抗酸化剤、防腐剤、等張化剤、pH調節剤、溶解剤、安定化剤などを用いることができ、これらの目的で使用される個々の具体的成分は当業者に周知されている。

経口投与用の製剤の調製に用いることができる製剤用添加物として、例えば、ブドウ糖、乳糖、D-マンニトール、デンプン、又は結晶セルロース等の賦形剤；カルボキシメチルセルロース、デンプン、又はカルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤又は崩壊補助剤；ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、又はゼラチン等の結合剤；ステアリン酸マグネシウム又はタルク等の滑沢剤；ヒドロキシプロピルメチルセルロース、白糖、ポリエチレングリコール又は酸化チタン等のコーティング剤；ワセリン、流動パラフィン、ポリエチレングリコール、ゼラチン、カオリン、グリセリン、精製水、又はハードファット等の基剤を用いることができる。

注射あるいは点滴用の製剤の調製に用いることができる製剤用添加物としては、

注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール等の水性あるいは用時溶解型注射剤を構成しうる溶解剤又は溶解補助剤；ブドウ糖、塩化ナトリウム、D-マンニトール、グリセリン等の等張化剤；無機酸、有機酸、無機塩基又は有機塩基等の pH 調節剤等の製剤用添加物を用いることができる。

本発明の医薬はヒトを含む哺乳動物に投与することができる。

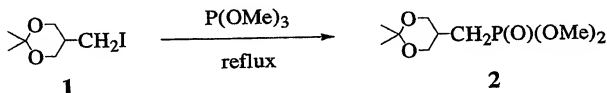
本発明の医薬の投与量は患者の年齢、性別、体重、症状、及び投与経路などの条件に応じて適宜増減されるべきであるが、一般的には、成人一日あたりの有効成分の量として $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ から $1,000 \text{ mg}/\text{kg}$ 程度の範囲であり、好ましくは $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ から $10 \text{ mg}/\text{kg}$ 程度の範囲である。上記投与量の薬剤は一日一回に投与してもよいし、数回（例えば、2～4回程度）に分けて投与してもよい。

以下の実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明は実施例によって限定されることはない。

実施例

合成例 1：

(1) (2, 2-ジメチル- [1, 3] ジオキサソ- 5-イルメチル) -ホスホン酸ジメチルエステル合成



Dubois らの方法 (Dubois J. et al., Tetrahedron, 47, 1001 (1991).) に従って合成したヨウ化物 1 を原料に用い、Arbuzov 反応を行った。

ヨウ化物 1 (1.12g, 4.62mmol) に亜リン酸トリメチル 8.6mL を加え、14 時間、130℃で加熱還流をした。亜リン酸トリメチル 8.6mL を加え、再び還流を 6 時間続けた。さらに亜リン酸トリメチル 8.6mL を加え、3 時間還流を行った。反応液を

放冷後、減圧蒸留を行い、残存する亜リン酸トリメチルを除去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝15：1）で精製し、ホスホン酸 2（986mg, 90%）を得た。得られた 2 をそのまま次の反応に用いた。

Rf 値： 0.33 (Hexane : AcOEt = 1:1)

¹H-NMR (270MHz)

δ : 1.42 (s, 6H, IP)

1.81 (dd, 2H, J = 18.87, 6.93Hz, CH₂P(O)(OMe)₂)

1.92 - 2.21 (m, 1H, H-2)

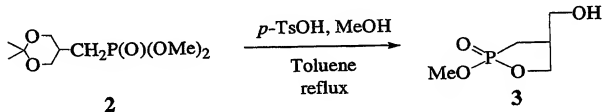
3.66 (dd, 2H, J = 12.05, 7.10Hz, H-3)

3.78 (d, 6H, J = 11.22Hz, P(O)(OCH₃)₂)

4.02 (dd, 2Hx1/2, J = 11.87, 1.32Hz, H-3)

4.17 (dd, 2Hx1/2, J = 14.68, 7.09Hz, H-3)

(2) (2-メトキシ-2-オキソ-2,1,5-[1,2]オキサホスホラン-4-イル) メタノールの合成



ホスホン酸 2 (76.4mg, 0.32mmol) をトルエン 3.8mL に溶かし、メタノール 0.13mL および、p-トルエンスルホン酸水和物 14.0mg (0.23eq) を加え、2 時間 45 分加熱還流をした。放冷後、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝15：1）で精製し、環状ホスホン酸 3 (40.3mg, 76%) を得た。

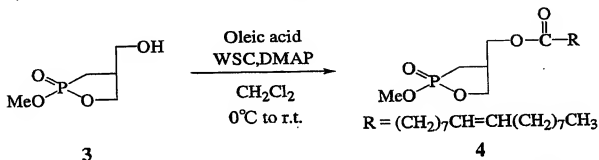
Rf 値： 0.57 (CHCl₃ : MeOH = 4:1)

¹H-NMR (300MHz)

δ : 1.73 - 2.12 (m, 2H, H-4)

- 2.69-2.87 (m, 1H, H-2)
 3.66 (d, 2H, J = 6.43Hz, H-1)
 3.78 (dd, 3H, J = 0.55, 11.02Hz, OCH₃)
 3.83-4.40 (m, 2H, H-3)

(3) 9-オクタデセン酸 2-メトキシ-2-オキシノ-2λ⁵-[1,2]オキサホスホラン-4-イルメチルエステルの合成



環状ホスホン酸 3 (8.4mg, 0.051mmol) をジクロロメタン 3mL に溶解し、0°C で DMAP (1.9mg, 0.3eq)、オレイン酸 (18.6mg, 1.3eq)、WSC (19.4mg, 2eq) を加え、室温で 1 日攪拌した。反応溶液をメタノールで希釈し、水で洗浄して有機層を酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ベンゼン：酢酸エチル = 1 : 1) で精製し、環状ホスホン酸エステル 4 (15.6mg, 72%) を得た。

同様に、パルミチン酸、パルミトレイン酸を反応させ、パルミチン酸エステル (R = (CH₂)₁₄CH₃, 89.7mg, 51%)、パルミトレイン酸エステル (R = (CH₂)₇CH=CH(CH₂)₉CH₃, 89.6mg, 35%) を得た。

4-1 オレイン酸エステル

Rf 値 : 0.23 (Benzene : AcOEt = 1:1)

¹H-NMR (500MHz)

δ : 0.88 (t, 3H, J = 6.87, H-18')

1.26-1.30 (m, 20H, H-4' -7' , H-12' -17')

1.60-1.63 (m, 2H, H-3')

- 1.66-1.77 (m, 2Hx1/2, H-4)
1.99-2.03 (m, 4H, H-8', H-11')
2.04-2.13 (m, 2Hx1/2, H-4)
2.32 (t, 2H, J = 7.48Hz, H-2')
2.82-2.99 (m, 1H, H-2)
3.80 (dd, 3H, J = 11.14, 4.12Hz, OCH₃)
3.76-4.35 (m, 4H, H-1, H-3)
5.31-5.38 (m, 2H, H-9', H-10')

4-2 パルミチン酸エステル

Rf 値 : 0.25 (Hexane : AcOEt = 1:2)

¹H-NMR (400MHz)

- δ : 0.88 (t, 3H, J = 6.83Hz, H-16')
1.25-1.28 (m, 24H, H-4' -15')
1.59-1.63 (m, 2H, H-3')
1.67-1.78 (m, 2Hx1/2, H-4)
1.98-2.13 (m, 2Hx1/2, H-4)
2.32 (t, 2H, J = 7.55Hz, H-2')
2.83-2.92 (m, 1H, H-2)
3.80 (dd, 3H, J = 11.23, 3.16Hz, OCH₃)
3.94-4.36 (m, 4H, H-1, H-3)

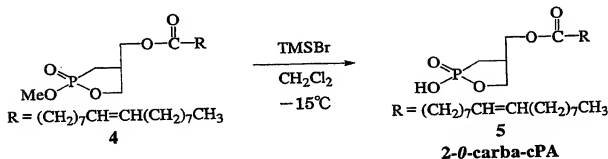
4-3 パルミトレイン酸エステル

¹H-NMR (500MHz)

- δ : 0.88 (t, 3H, J = 6.83Hz, H-16')
1.28-1.30 (m, 16H, H-4' -7', H-12' -15')
1.60-1.61 (m, 2H, H-3')

1. 65-1.78 (m, 2Hx1/2, H-4)
 2. 01-2.02 (m, 4H, H-8', H-11')
 2. 05-2.13 (m, 2Hx1/2, H-4)
 2. 32 (t, 2H, J = 7.43Hz, H-2')
 2. 84-2.96 (m, 1H, H-2)
 3. 80 (dd, 3H, J = 11.09, 3.30Hz, OCH₃)
 3. 72-4.36 (m, 4H, H-1, H-3)
 5. 30-5.39 (m, 2H, H-9', H-10')

(4) 9-オクタデセン酸 2-ヒドロキシ-2-オキソ-2λ⁵-[1,2]オキサホ
 スホラン-4-イルメチルエステルの合成



環状ホスホン酸エステル 4 (33.3mg, 0.077mmol) をジクロロメタン 4mL に溶解し、-15°C で TMSBr (35.5mg, 3eq) を加え、4 時間半撹拌した。反応溶液を氷水にあげ、冷エーテルで 1 回抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル＝2：1→クロロホルム：メタノール＝5：1）で精製し、2-O-carba-cPA 5 (12.1mg, 38%) を得た。

同様に、パルミチン酸エステル (R=(CH₂)₁₄CH₃)、パルミトレイン酸エステル (R=(CH₂)₇CH=CH(CH₂)₅CH₃) を反応させ、2-O-carba-cPA 5 の、パルミチン酸エステル (3.5mg, 10%)、パルミトレイン酸エステル (3.4mg, 8%) を得た。

5-1 2-O-carba-cPA オレイン酸エステル

Rf 値 : 0.26 (CHCl₃ : MeOH : H₂O = 60:20:3)

¹H-NMR (500MHz) δ : 0.88 (t, 3H, J = 6.88Hz, H-18')

1.26-1.30 (m, 20H, H-4' -7' , H-12' -17')

1.60-1.61 (m, 2H, H-3')

1.70-1.77 (m, 2Hx1/2, H-4)

1.99-2.03 (m, 4H, H-8' , H-11')

2.04-2.09 (m, 2Hx1/2, H-4)

2.31 (t, 2H, J = 7.48Hz, H-2')

2.90-2.91 (m, 1H, H-2)

3.92-4.29 (m, 4H, H-1, H-3)

5.31-5.38 (m, 2H, H-9' , H-10')

5-2 2-O-carba-cPA パルミチン酸エステル

¹H-NMR (400MHz) δ : 0.88 (t, 3H, J = 6.71Hz, H-16')

1.26 (m, 24H, H-4' -15')

1.59-1.63 (m, 2H, H-3')

1.70-1.80 (m, 2Hx1/2, H-4)

2.04-2.13 (m, 2Hx1/2, H-4)

2.31 (t, 2H, J = 7.63Hz, H-2')

2.86-2.96 (m, 1H, H-2)

3.91-4.32 (m, 4H, H-1, H-3)

5-3 2-O-carba-cPA パルミトレイン酸エステル

¹H-NMR (500MHz) δ : 0.88 (t, 3H, J = 6.85Hz, H-16')

1.26-1.30 (m, 16H, H-4' -7' , H-12' -15')

1.61 (m, 2H, H-3')

1.70-1.78 (m, 2Hx1/2, H-4)

- 1.99-2.03 (m, 4H, H-8', H-11')
2.05-2.12 (m, 2Hx1/2, H-4)
2.31 (t, 2H, J = 7.65Hz, H-2')
2.85-2.95 (m, 1H, H-2)
3.91-4.31 (m, 4H, H-1, H-3)
5.31-5.38 (m, 2H, H-9' , H-10')

試験例 1 :

(材料及び方法)

細胞培養

300g のオスのドンリユーラット (日本生物材料) を無菌的に開腹し、それから得た腸間膜を、37℃で 15 分間、0.25%トリプシン処理し、150 μ m のステンレスメッシュで濾過、遠心して中皮細胞を回収した。2 倍量のイーグル MEM アミノ酸ビタミン培地 (ニッスイ) を添加したイーグル MEM1 (ニッスイ) に、10%FBS を加えたメディウムで、37℃、5%CO₂ の条件下で培養した。一週間培養してコンフルエントまで育った単層の中皮細胞を、浸潤アッセイに用いた。

ラット腹水肝がん細胞 (AH-130) の高浸潤性クローンである MM1 細胞は、向井らによって確立され (Int. J. Cancer : 81, 918-922 (1999))、中皮細胞と同様の条件下で培養した。

In vitro 浸潤アッセイ

In vitro 浸潤アッセイは、明渡らにより開発された (Cancer Res. 46, 2416-2422 (1986))。コンフルエントになるまで育てた中皮細胞層に、25 μ M LPA (SIGMA) 存在下で、MM1 細胞を重層培養し、図 1 に示した各種の cPA を添加した。37℃、5%CO₂ の条件下で 20 時間培養したのち、10%ホルマリンで固定して、位相差顕微鏡下で、浸潤した MM1 細胞のコロニーをカウントした。図 1 において、2-C-ole-cPA は 2-O-carba-cPA オレイン酸エステルを示し、2-C-pal-cPA は

2-O-carba-cPA パルミチン酸エステルを示し、2-C- Δ pal-cPA は 2-O-carba-cPA パルミトレイン酸エステルを示し、3-C-ole-cPA (比較例) は 3-O-carba-cPA オレイン酸エステルを示す。

cPA 及び LPA は、0.1% fatty-acid free BSA (SIGMA) を含む PBS 中で氷冷して超音波処理し、エマルジョン化して、 -20°C に保存したものを使用した。

(結果)

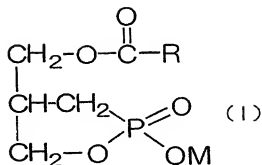
結果を図 1 に示す。LPA によって誘導される浸潤 (transcellular migration) に対する、cPA 合成誘導体の影響を検討したところ、図 1 に示したように、グリセロール骨格の sn-2 位の O を CH_2 に置換した 2-C-cPA は、sn-3 位の O を CH_2 に置換した 3-C-cPA と同程度に強く浸潤を抑制した。また、天然体 cPA では、sn-1 位にパルミチン酸の結合したものが最も強く浸潤を抑制したが、2-C-cPA では 3-C-cPA と同様に、パルミチン酸よりも、二重結合を 1 カ所含むオレイン酸、パルミトオレイン酸を結合するものの方が、より強く浸潤を抑制した。

産業上の利用の可能性

本発明によりグリセロール骨格の sn-2 位の O を CH_2 に置換した新規な構造を有する新規な構造を有するカルバ環状ホスファチジン酸誘導体が提供される。本発明のカルバ環状ホスファチジン酸誘導体は癌細胞の浸潤抑制作用を有することから、抗癌剤などの医薬として有用である。

請求の範囲

1. 下記式 (I):

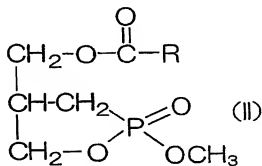


(式中、Rは、炭素数1～30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基、炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基、又は炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基であり、これらの基はシクロアルカン環又は芳香環を含んでいてもよい。Mは、水素原子又は対カチオンである。)

で示される化合物。

2. 下記式 (I) において、Rが $\text{-C}_{18}\text{H}_{31}$ 、 $\text{-(CH}_2)_7\text{CH=CHC}_6\text{H}_{13}$ 、又は $\text{-(CH}_2)_7\text{CH=CHC}_8\text{H}_{17}$ であることを特徴とする、請求項1に記載の化合物。

3. 下記式 (II):

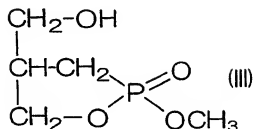


(式中、Rは、炭素数1～30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基、炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基、又は炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基であり、これらの基はシクロアルカン環又は芳香環を含ん

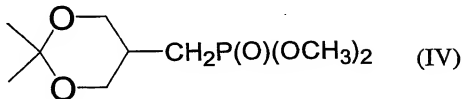
でいてもよい。)

で示される化合物。

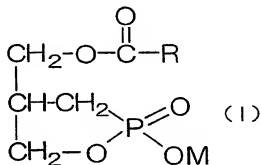
4. 下記式 (III) で示される化合物。



5. 下記式 (IV) で示される化合物。



6. 下記式 (I) :



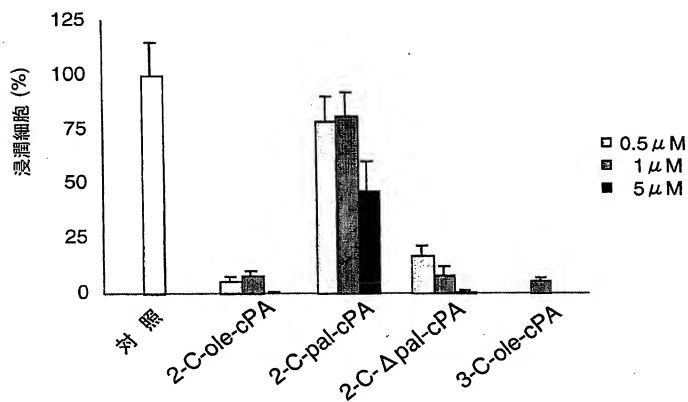
(式中、Rは、炭素数1～30の直鎖状若しくは分岐状アルキル基、炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルケニル基、又は炭素数2～30の直鎖状若しくは分岐状アルキニル基であり、これらの基はシクロアルカン環又は芳香環を含んでいてもよい。Mは、水素原子又は対カチオンである。)

で示される化合物を有効成分として含む医薬。

7. 抗癌剤として使用する、請求項6に記載の医薬。

8. 癌細胞の浸潤を抑制することにより癌の転移を抑制する、請求項7に記載の医薬。

図 1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/07335

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C07F9/6574, 9/655, A61K31/662, A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C07F9/6574, 9/655, A61K31/662, A61P35/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LILIOM, Karoly et al., N-palmitoyl-serine and	1, 6
A	N-palmitoyl-tyrosine phosphoric acids are selective competitive antagonists of the lysophosphatidic acid receptors Molecular Pharmacology, 1996, Vol.50, No.3, pages 616 to 623, particularly, Fig. 1	2-4, 7-8
A	YOKOMATSU, Tsutomu et al., Lipase-catalyzed enantioselective acylation of prochiral 2-(w-phosphono)alkyl-1, 3-propanediols: application to the enantioselective synthesis of w-phosphono- α -amino acids Tetrahedron: Asymmetry, 1996, Vol.7, No.9, pages 2743 to 2754	5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
13 August, 2003 (13.08.03)Date of mailing of the international search report
02 September, 2003 (02.09.03)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07F9/6574, 9/655, A61K31/662, A61P35/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07F9/6574, 9/655, A61K31/662, A61P35/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	LILIOM, Karoly et al., N-palmitoyl-serine and N-palmitoyl-tyrosine phosphoric acids are selective competitive antagonists of the lysophosphatidic acid receptors Molecular Pharmacology, 1996, Vol. 50 No. 3, p. 616-623 特にFig. 1.	1, 6 2-4, 7-8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

13. 08. 03

国際調査報告の発送日

02.09.03

国際調査機関の名称及び先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

本堂 裕司

4H

9049

電話番号 03-3581-1101 内線 3443

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	YOKOMATSU, Tsutomu et al., Lipase-catalyzed enantioselective acylation of prochiral 2- (ω -phosphono)alkyl-1,3-propanediols: application to the ena ntioselective synthesis of ω -phosphono- α -amino acids Tetrahedron: Asymmetry, 1996, Vol. 7 No. 9, p. 2743-2754	5